Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. Knorr.

Der Einfluß der Korngröße auf die Dampfresistenz der Sporenerde.

Inaugural-Dissertation
verfaßt und einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
vorgelegt von

Erika Pannwitz

1940

Buchdruckerei Richard Mayr, Würzburg

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg.

Berichterstatter:

Dozent Dr. phil. et med. habil. Paul Oesterle.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A. Vorbemerkung.

Die für die ärztliche Praxis notwendigen Forderungen, wie sie der Begriff der Sterilisation im Deutschen Arzneibuch D.A.B. VI. stellt, finden allmählich in der Vorbereitung des ärztlichen Operationsbedarfs die gebührende Beachtung. Die Methoden der Entkeimung sind für den größten Teil des zu sterilisierenden Instrumentariums und des übrigen Operationsmaterials klar vorgezeichnet. Auch der Apparatebau hat für die Sterilisiergeräte in den letzten Jahren wesentliche Fortschritte aufzuweisen. Die Vorgänge bei der Dampfsterilisation wurden zeitlich verfolgt, indem die Geschwindigkeit des Eindringens von Dampf und die ebenso für die Sicherheit der Wirkung wichtige Verdrängung der Luft aus dem Sterilisiergut untersucht wurden.

Hand in Hand mit diesen neuzeitlichen Erkenntnissen in der Praxis geht die Prüfung über die Leistung eines Entkeimungsverfahrens. Für die physikalische Prüfung haben wir in dem thermoelektrischen Meßgerät eine Vorrichtung, die uns mit ziemlicher Genauigkeit über die Temperaturhöhe und den zeitlichen Ablauf der Entkeimung durch Hitze Aufschluß gibt. Ihr zur Seite steht die biologische Prüfung.

Diese hat als Testmaterial zur Feststellung des Erfolgs einer Sterilisiermethode die getrocknete und gesiebte Gartenerde (Sporenerde). In diesem Material sind die bis jetzt bekannten, höchstresistenten Sporenarten, die sog. ..genuinen" oder „nativen" Sporen der Erdbazillen enthalten. Nicht jede Bodenprobe besitzt Sporen dieser hohen Resistenz, sondern nur in gedüngten Böden sind dieselben reichlich vorhanden.

Eine große Zahl von Erdproben aus den verschiedensten Ländern untersuchte Stührk (1) und fand, daß die Proben von wärmeren

Gebieten vorwiegend höchstresistente Sporenarten aufweisen. Klima und Lage der Böden zeigten sich ohne Einfluß. Bei einheimischen Bodenarten stellte Jettmar (2), wie schon vor ihm Konrich (3), fest, daß die höchstresistenten Sporen von thermophilen Bazillen in Proben von Äckern, Weingärten, Maisfeldern und zahlreich im Rübenschlamm angetroffen werden. Es waren in der Hauptsache solche Entnahmestellen, in denen starke Kompostierung und Verrottung vor sich ging.

Die großen Unterschiede bei den einzelnen Erdproben haben zu der Forderung geführt, daß eine Gartenerde vor Ingebrauchnahme als Sterilisiertestmaterial auf die Anwesenheit von höchstresistenten Sporen geprüft werden muß. Nach Konrich's (4) und anderen Arbeiten ist zu verlangen, daß eine als Sterilisiertestmaterial zu verwendende Sporenerde den gespannten, gesättigten Wasserdampf von 120° = 1atü mindestens fünf Minuten überdauert.

Die Ursache von der hohen Resistenz der in der Gartenerde enthaltenen Sporen ist in den letzten Jahren viel umstritten. Es stehen sich grundsätzlich zwei Ansichten gegenüber. Nach der einen Anschauung ist die Ursache hauptsächlich in der der die Sporen umhüllenden Erde als schützende Substanz zu suchen. Die andere Meinung sieht dagegen in der hohen Resistenz der nativen Spore eine biologische Wertigkeit dieser in der Muttersubstanz „Erde" gereiften Dauerformen.

Schon 1895 nahm Christen (5) an, daß nicht genauer bekannte Nährstoffe im Erdboden für die Bildung höchstwiderstandsfähiger Sporen verantwortlich sind. Wie mehrfach im Schrifttum betont (Süpfle (6) und seine Mitarbeiter Williams (7), Heiduschka (8) u. a.), gibt es für die Entstehung von maximal resistenten Sporen einer Bazillenart jeweils einen optimalen Nährboden. Desgleichen muß ein der Hitzewirkung ausgesetztes Sporenmaterial für die Nachkultur wiederum unter optimalen Verhältnissen weitergezüchtet werden. Nur so ist es möglich, durch Vergleich von einwandfreien Ergebnissen Schlüsse über die Resistenzhöhe verschiedener Sporenarten ziehen zu können.

Unter Wahrung dieser Bedingungen sind in den letzten Jahren mehrere Arbeiten erschienen, die sich mit der Erhöhung der Dampfresistenz von Kultursporen durch Züchtung in geeigneten Nährmitteln und bei entsprechend günstiger Temperatur befassen.

Bei thermophilen Bazillen machte Sames (9) und bei mesophilen Sporenbildner Jettmar (10) die Feststellung, daß die Züchtung bei höherer Temperatur Sporen von größerer Hitzeresistenz erzeugt. Auch Mündel und Schmidt steigerten die Kochresistenz der Kultursporen von Erdbazillen durch Züchtung und wiederholte Passagen bei 46° C. Für gesättigten Wasserdampf von 120° C konnte Oesterle (11) bei Mesenterikussporen durch Züchtung über steriler Erde in 1%iger Traubenzuckerbrühe eine geringe Resistenzsteigerung erzielen. Diese erreichte jedoch bei weitem nicht die Resistenzhöhe von nativen Sporen der entsprechenden Gartenerde. Auch das Vermischen von getrockneten Mesenterikussporen mit steriler Erde führte zu einer geringen Steigerung der Resistenz. Zu ähnlichen Ergebnissen mit strömendem Wasserdampf gelangte auch Stühlrk (1), indem er Kultursporen auf sterile Erde überimpfte und einige Wochen bei 29° C hielt. Auch die jüdischen Autoren Sobernheim und Mündel in Bern fanden, daß das Durchtränken von steriler Erde mit einer Aufschwemmung von Kultursporen aus der Subtilis-Mesenterkusgruppe und anschließendem, mehrstündigem Trocknen bei 46° C die Resistenz **gegenüber strömendem Dampf** von 98—99° steigert. Dieselbe war aber trotzdem noch 10mal geringer als die Resistenz der nativen Sporen derselben Erdprobe. Nur so vermögen wir die in dieser Arbeit in Tabellenform wiedergegebenen Versuchsergebnisse zu deuten, und können mit Sobernheim und Mündel nicht einig gehen in der Ansicht, daß Unterschiede in den Sterilisierzeiten **auch bei Kochversuchen** von 5 und 7 Stunden oder von 8 und 10 Stunden für imprägnierte Kultursporen und nativer Erde **„nicht als wesentlich betrachtet werden können."**

Erwähnt sei fernerhin bei dieser Erörterung, daß bei unsern Versuchen als Kultur der letzten Anwachszeiten stets die Bazillen der Sphärikusgruppe auftraten, deren verschiedene Wuchsform als endständige Sporenbildner Oesterle (11, 12) in seinen Arbeiten mehrfach erwähnt. Hierher gehören auch sehr wahrscheinlich die von Goertzen (13) beschriebenen, bei seinen Sporenerde-Versuchen als überlebende Keimarten von chemisch behandeltem Nahtmaterial stets aufgetretenen Aerobier von schlanken Stäbchen mit endständiger, ovaler Spore und koliähnlichem Wachstum auf Agarplatten.

Eine genauere Beschreibung von Sphärikusstämmen, die bei früheren Resistenzversuchen mit Sporenerde gewonnen wurden, finden wir bei Manigold (14). Über gasbildende aerobe Erdbazillen aus der Sphärikusgruppe berichtet in einer neueren Arbeit Oesterle (12). Zu ca. 20% zeigte sich bei unsern Dampfversuchen in den unsterilen Flaschen das von Knorr (15) zuerst bei Heißluft- und Dampfversuchen festgestellte Wachstum von Actinomyces chromogenes, meist in Reinkultur, nur vereinzelt mit Bac. sphaericus gemeinsam. Dieselbe Feststellung machte neuerdings am hiesigen Institut Sellin (16) bei Prüfung der Handschuhsterilisation im Hochdruckdampf. Das von Sobernheim und Mündel als das zuletzt bezeichnete Wachstum von Bazillen aus der Mesenterikus- oder gar Subtilisgruppe war bei den verschiedenen Proben unserer Würzburger Erde stets bei weit geringeren Einwirkungszeiten (3—4 Min.) des gesättigten, gespannten Wasserdampfes von 1 atü aufgetreten.

Mit dem mehrfach nachgewiesenen Resistenzunterschied zwischen imprägnierten Kultursporen und genuiner Erde — selbst auch dann, wenn die letzten Aussaaten der Koch- und Dampfversuche bei Sporenerde ebenfalls noch Wachstum von Bac. mesentericus zeigten —, ist der Ansicht über die biologische Eigenheit der hohen Resistenz der genuinen Sporen eine starke experimentelle Stütze gegeben. Es wäre höchstens noch einzuwenden, daß beim Durchtränken der sterilen Erde mit Kultursporen letztere nicht vollkommen im Innern der einzelnen Erdpartikelchen zu liegen kommen, sondern günstigenfalls in die Tiefe der von der Oberfläche eines Erdkörnchens abgehenden Furchen.

Diesen Einwand glauben wir mit Versuchsreihen entgegentreten zu können, die gleichzeitig die Frage zu beantworten hatten, ob die Korngröße einer Sporenerde einen Einfluß auf ihre Abtötungszeit im 120gradigen, gesättigten Wasserdampf erkennen läßt. Hat die Berner Schule mit ihrer Ansicht über den mechanisch schützenden Faktor der Erdpartikelchen recht, so ist anzunehmen, daß ein Vielfaches der Korngröße ein und derselben Sporenerde auch erhöhte Abtötungszeiten verlangt.

B. Eigene Versuche.

Da das Schrifttum keine einheitlichen Angaben enthält über diejenigen Versuchsmengen von Sporenerde, die zur Prüfung ihrer Resistenz und demzufolge auch zur Feststellung ihrer Brauchbarkeit als Sterilisiertestmaterial notwendig sind, wurde zunächst in Vorversuchen diese Frage angegangen. Hierbei konnten wir uns gleichzeitig über die Resistenzhöhe unserer Gartenerde unterrichten.

Konrich (4) schlägt für die Prüfung der Sterilisiertesterde Päckchen aus doppeltem Fließpapier mit 1—2 g Inhalt vor. Sobernheim und seine Schüler verwendeten für die Koch- und Dampfversuche 0,2—0,4 g freiliegende Sporenerde, wobei sie bei 0,4 g durchschnittlich höhere Stundenzahlen als Abtötungszeit angeben. Oesterle (11) prüfte die Anwesenheit von höchstresistenten Sporen in steigenden Versuchsmengen von 0,1—10,0 g mit alkalischer Brühe (10 ccm) angefeuchteter Sporenerde. Er fand, daß erst von 3 g Versuchsmenge an aufwärts eine genügende Zahl höchstresistenter Sporen regelmäßig vorgefunden wird. Es wird deshalb von ihm für die Brauchbarkeit eines Sterilisiertestmaterials die Forderung erhoben, daß 3 g der betreffenden Sporenerde unverhüllt den gesättigten, 120gradigen Wasserdampf 5 Minuten überdauern müssen.

Für die folgenden Versuche wurde eine Gartenerde verwendet, die im November 1936 aus dem Garten des damaligen Hygiene-Instituts Würzburg entnommen wurde. Nach dem Trocknen wurde die Erde in einem Porzellanmörser gründlich verrieben, bis sie feinpulverig war, dann durch ein Sieb (Maschenweite 0,5 mm) geschlagen und bei Zimmertemperatur (18—24° C) in einem geschlossenen Glasgefäß vor Licht geschützt aufbewahrt.

Die Versuchsreihe I wurde in einem zylindrischen, gasbeheizten Autoklaven (Innenmaße 60/40 cm) der Firma F. u. M. Lautenschläger Berlin ausgeführt; die Versuchsreihen II und III in einem mit Hausdampf gespeisten Apparat derselben Größe. Die Dauer der Versuche erstrecktesich von April 1938 bis Juni 1939.

I. Versuchsreihe: :

Es wurden Sporenerdmengen von 0,1, 0,3, 0,5, 1,0, 2,0 und 3,0 g in je 20 Versuchsflaschen vorgelegt und kurz vor Versuchsbeginn mit 10 ccm alkalischer Brühe (pH 7,8) angefeuchtet. Die 120 Flaschen wurden in di ebeiden Fächer des Autoklaven regellos eingestellt.

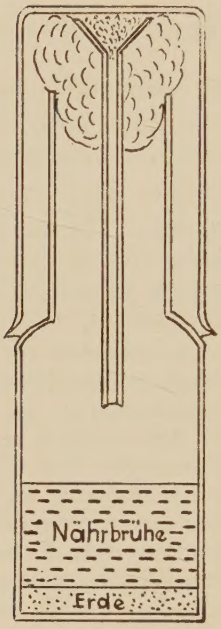

Abb. 1 (½ nat. Größe)

Um die Zahl der Luftinfektionen weitmöglichst einzuschränken, wurde ein kleiner Trichter durch den Wattestopfen der Versuchsflasche gesteckt (Abb. 1), durch den die Brühe jeweils zugegeben wurde.

Bei dem gasbeheizten Autoklaven stieg die Dampftemperatur auf 122—123° C, weshalb auch die niederen Sterilisierzeiten von 4, 4½ und 5 Minuten gewählt wurden. Die Steigezeit von 100° auf 122° C schwankte zwischen 11—14 Minuten. Die Fallzeit von 122° auf 110° wurde durch Absaugen des Dampfes auf eine Minute beschränkt; die nachfolgende Fallzeit von 110° auf 100° C belief sich auf 10—14 Minuten.

Nach der Sterilisation wurde durch das Trichterchen 50 ccm 1% Traubenzuckerbrühe gegeben. Die Bebrütung wurde 3 Tage bei 37° C und anschließend 7 Tage bis mehrere Wochen bei 22° C durchgeführt. Bei der Prüfung auf Sterilität begnügten wir uns nicht mit der makroskopischen Beobachtung der Trübung im durchfallenden Licht, sondern es wurden 8 ccm Brühe von jeder Flasche ent-

nommen und 5 Minuten bei 3 000 Umdrehungen zentrifugiert. Das Sediment wurde mikroskopisch im Grampräparat und kulturell auf 1% Traubenzuckeragarplatte auf seinen Keimgehalt untersucht.

In der Zahlentafel 1 sind die unsterilen Proben und die Luftinfektionen für die verschiedenen Versuchszeiten aufgezeichnet.

Tabelle 1.

Menge in g	Ges. Zahl der Flaschen			Unsteril			Luftinfektionen		
	4′	4½′	5′	4′	4½′	5′	4′	4½′	5′
3	20	40	40	1	3::	4:	2	1	2
2	20	40	40	1:	3::	2:	1	0	0
1	20	40	40	1	3:	1	0	0	0
0,5	20	40	40	0	1	0	3	1	1
0,3	20	40	40	0	1	0	0	3	0
0,1	20	40	40	0	1:	0	0	0	0
Sa:	120	240	240	3	12	7	6	5	3

: = Anteil des Wachstums von Act. chromogenes.

Die Mehrzahl (5) der unsterilen Flaschen mit Wachstum von Actinomyces chromogenes zeigte die am Grunde und an der Glaswand haftenden Pilzhäutchen erst nach weiteren, die übliche Bebrütungszeit um 3—5 Wochen bei Zimmertemperatur überdauernde Beobachtung, eine Tatsache, auf die Oesterle (12) bereits hinwies.

Die Zahlentafel 2 gibt das Gesamtergebnis für die einzelnen Versuchsmengen von Sporenerde an.

Tabelle 2
(Zahl der unsterilen Flaschen)

Menge in g	Gesamte Zahl der Flaschen	Zahl der unsterilen Flaschen	Luftinfektionen
3	100	8	5
2	100	6	1
1	100	5	0
0,5	100	1	5
0,3	100	1	3
0,1	100	1	0
Sa:	600	22	14

Trotz der angewandten Vorsichtsmaßnahmen ließen sich, wie die Spalte 4 aufweist, Luftinfektionen nicht ganz vermeiden.

Die Beurteilung der beiden Tabellen zeigt jedoch, daß höchstresistente Sporen in einer Menge von 1 g Sporenerde aufwärts häufiger vorhanden sind. Daß es sich hierbei nur um einzelne höchstresistente Sporen in diesen größeren Proben handelt, beweisen die geringen Unterschiede in der Zahl der unsterilen Flaschen bei den verschiedenen Versuchsmengen. Zu gleichen Feststellungen ist auch Konrich gekommen, bei der Aufstellung der Absterbeordnung für Sporenerde gegenüber verschieden hohen Wärmegraden des gesättigten, gespannten Wasserdampfes. Selbstverständlich begegnet man bei dem Arbeiten mit getrockneter Gartenerde, wie bei allen Versuchen, die sich mit der physikalischen oder chemischen Resistenz der Sporen befallen den sog. „Springern", d. h. Sporen, die sehr weit von der Resistenz der übrigen abweichen und in das übliche Resistenzschema ohne weiteres nicht eingeordnet werden können. Ein Vielfaches der hier verwendeten Versuchsflaschen könnte dies noch deutlicher zeigen, wie frühere Arbeiten von Oesterle u. a. lehren. Ausdrücklich sei betont, daß zwischen 1,0 g und 3,0 g Sporenerde die Schichthöhe in der Versuchsreihe sehr deutliche Unterschiede aufwies. Jedoch hat Oesterle (12) in früheren Versuchen nachgewiesen, daß bei Anwendung von steigenden Mengen **angefeuchteter** Sporenerde die Schichthöhe ohne nennenswerten Einfluß auf die Resistenzhöhe ist. Da bei 3 g Erde die Zahl der unsterilen Proben gegenüber der kleineren Menge wesentlich größer ist, folgerten wir aus dem Ergebnis und unter Berücksichtigung der früher mitgeteilten Befunde, daß bei Anwendung der Gartenerde als Sterilisiertestmaterial doch mindestens 3 g Erde unverhüllt für die Prüfung verwendet werden sollen. Diese Feststellung war demzufolge die Grundlage für die Versuchsmenge bei unseren weiteren Versuchen.

Während des Ablaufs der ersten Versuchsreihe entnahmen wir im Juni 1938 eine neue Bodenprobe an derselben Stelle des Institutsgartens, von der auch die bisher gebrauchte November-1936-Erde herrührte. Von der trockenen und fein zerriebenen Erde stellten wir zunächst zwei Proben verschiedener Korngröße her.

Die eine Probe wurde wie üblich nach Durchschütteln der Erde durch das Sieb des Knopp'schen Satzes mit 0,5 mm Maschenweite gewonnen. Die Korngröße dieser aufgefangenen Probe (fein) betrug also 0,5 mm und weniger.

Die grobkörnige Probe wurde nach Durchschlagen der zurückgebliebenen Erde durch das Sieb mit 0,6 mm Maschenweite erhalten. Die Körnergröße dieser Probe (grob) betrug somit 0,5—0,6 mm.

Mit diesen beiden Korngrößen wurde eine weitere Versuchsreihe angestellt.

II. Versuchsreihe:

Für jede Korngröße wurden 60 Versuchsflaschen (Abb. 1) mit je 3 g Erde beschickt und wie bisher kurz vor Versuchsbeginn mit 10 ccm alk. Brühe angefeuchtet. Die 120 Flaschen wurden unter sich vermischt im Autoklaven eingestellt. Im ganzen wurden 9 Versuche ausgeführt. Die Sterilisierdauer betrug 3¼—7½ Minuten. Bei den niederen Sterilisationszeiten von 3¼ und 5 Minuten betrug die Dampftemperatur 122—123° C. Die Steigezeit wurde bei allen Versuchen von 100° auf 120° auf 13—15 Minuten eingestellt. In der Tabelle 3 werden die Versuchsergebnisse einzeln wiedergegeben.

Tabelle 3

Nr.	Sterilisationszeit in Min.	Fein			Grob			Luftinfektionen und zerbrochen
		Zahl d. Fl.	steril	unsteril	Zahl d. Fl.	steril	unsteril	
1	5	59	54	3	60	52	2	8
2	3¼	60	50	5	60	47	5	13
3	6	60	—	60	60	—	60	—
4	8	60	47	11	60	44	9	9
5	8	50	35	13	50	32	15	5
6	8	60	41	13	60	50	7	9
7	7½	60	23	10	60	32	24	31
8	7½	60	3	48	60	35	17	17
9	6½	40	4	28	40	15	16	16
Sa:		509		191	510		155	

unsteril = Wachstum von Sporenbildnern u. Actinomyzeten.

Vergleicht man den Prozentsatz der unsterilen Flaschen für die verschiedenen Korngrößen, so zeigt sich, daß die feinkörnige Erde ca. 20% mehr Flaschen mit Wachstum zeigt als die grobkörnige. Lassen wir den Versuch Nr. 3 bei der Berechnung außer acht, da die Unsterilität sämtlicher Flaschen beider Korngrößen für die Beurteilung nichts aussagt, so steigt die Differenz für die feine Erde sogar auf 38%. Würde die Annahme von Sobernheim und seinen Schülern zutreffen, so müßte gerade das Gegenteil sich zeigen, indem der Dampf bei den größeren Körnern eine längere Einwirkungszeit benötigt, um die in diesen groben Erdpartikelchen schlummernden Sporen abzutöten. Die Ergebnisse sprechen aber in anderem Sinne.

Bei der gleichen Zahl von unsterilen Flaschen wäre man berechtigt, der verschiedenen Korngröße dieselbe Dampffestigkeit zuzusprechen und das mechanische Moment der schützenden Wirkung zu negieren. Da die Versuchsergebnisse ein Überwiegen der Unsterilität der feinkörnigen Erde aufzeichnen, wird diese Schlußfolgerung noch mehr erhärtet. Es muß zweifellos angenommen werden, daß die Differenz von 38% der erschwerten Luftentfernung und demzufolge etwas langsameren Durchwärmung bei der feinkörnigen Erde zuzuschreiben ist. Eine andere Erklärung dürfte es für diese unterschiedlichen Befunde nicht geben.

Für die angeschnittene Frage bezeugen jedoch die Versuche, daß die Korngrößenunterschiede dieser beiden Erdproben **kein größeres mechanisches Hindernis für die grobe Probe erkennen lassen.** Es zeigen sich bei der Prüfung der Dampffestigkeit die in beiden Proben derselben Herkunft enthaltenen genuinen Sporen gleichwertig.

Eine weitere Bestätigung dieses Ergebnisses konnte mit der III. Versuchsreihe gewonnen werden, bei der zwei Erdproben mit noch größeren Unterschieden in der Korngröße untersucht wurden. Die hiezu benutzte Erde war dieselbe Bodenprobe wie die der Versuchsreihe II. Es wurde der feinkörnigen Erde vom Durchmesser 0,5 mm und weniger eine grobkörnige Sporenerde gegenübergestellt, die durch das Sieb mit der Maschenweite 1,0 mm hindurchging, jedoch durch das Sieb mit 0,6 mm zurückgehalten wurde. Die Korngröße dieser groben Probe betrug somit 0,6—1,0 mm.

III. Versuchsreihe:

Die Versuchsreihe wurde nach derselben Anordnung ausgeführt wie die zweite. Im ganzen wurden fünf Versuche fertiggestellt, die in Tabelle 4 einzeln wiedergegeben werden.

Tabelle 4

Nr.	Sterilisationszeit in Min.	Grob			Fein			Luftinfektionen
		Zahl d. Fl.	steril	unsteril	Zahl d. Fl.	steril	unsteril	
1	6¾	60	21	5	60	6	44	44
2	7	60	18	34	60	1	51	16
3	7½	60	40	6	60	0	56	18
4	8	60	35	8	60	8	36	33
5	8	30	17	8	30	9	16	10
Sa:		270	131	61	270	24	203	121

unsteril = Wachstum von Erdbazillen und Actinomyceten.

Vergleicht man die unterschiedlich angewandten Sterilisierzeiten in dieser Versuchsreihe, so fällt auf, daß in der Zahlentafel 4 einer höheren Sterilisierzeit nicht regelmäßig eine höhere Zahl von sterilen Flaschen entspricht. Ein ähnliches Verhalten läßt auch die Tabelle 3 erkennen. Für diese Unregelmäßigkeit kommen höchstwahrscheinlich kleine, unvermeidbare Unterschiede bei der Ausführung der Versuche sowie das Auftreten der schon erwähnten „Springer" in Frage. Es können einmal festere und dichtere Wattestopfen auf den Versuchsflaschen eine Erschwerung der Luftentfernung verursachen. Andernfalls vermögen kleinere nicht feststellbare Unterschiede in der Arbeitsweise des Autoklaven (Wärmeverteilung und Luftentfernung) zu derart geringen Änderungen in den Versuchsergebnissen führen. Außerdem sind geringe Schwankungen in der Dampfspannung bzw. Temperatur des Apparates um ca. ½° C während der Versuchsdauer nicht zu vermeiden.

Für die angeschnittene Frage bestätigen jedoch die Versuchsergebnisse in überzeugender Weise die aus Tabelle 3 für die Versuchsreihe II gezogenen Schlüsse. Es entsprechen bei der summarischen Gegenüberstellung der beiden Korngrößen 61 unsterile Flaschen der

grobkörnigen, 20 unsterilen Flaschen der **feinkörnigen** Erde. **Somit fordert eine angefeuchtete Sporenerde von größerem Durchmesser der Einzelkörner eine geringere Abtötungszeit als eine feinkörnige Erdprobe.** Wird die Sporenerde in trockenem Zustande der Dampfwirkung ausgesetzt, so steigt die Differenz der unsterilen Flaschen um ein Vielfaches, wie einige orientierende Vorversuche, die später vervollständigt werden sollen, vorläufig bestätigen. Die Erde als mechanisch schützender Faktor schaltet also vollkommen bei der Bewertung dieser Ergebnisse aus. Die gerade in das Gegenteil ausschlagenden Versuchsresultate lassen nur den verschiedenen zeitlichen Ablauf der Luftentfernung als ursächlichen Faktor für diese Unterschiede gelten, die überlegungsgemäß bei trockenen Erdproben größer als bei angefeuchteten Erdproben ist und erst recht großen Hindernissen bei einer feinkörnigen, trockenen Sporenerde begegnet. Die hohen Sterilisierzeiten von 6¾ und 8½ Minuten erforderte die Versuchsanordnung, wie sie durch unsere Versuchsflaschen (Abb. 1) und die für alle Versuche ziemlich konstant gehaltenen Steigezeit (100°—120° C) bedingt ist. Die in Tabelle 3 aufgezählten Versuche der Reihe II dienten als Hinweis für die Abtötungszeiten der beiden Korngrößen innerhalb der Versuchsreihe III.

Schlußfolgerung.

Für die allgemeine Deutung unserer Versuchsergebnisse sind bei kritischer Bewertung einiger anderer Arbeiten, die sich mit den Erdpartikelchen als dem Keimträger für die nativen Sporen befassen, folgende Schlüsse zugelassen:

Für die Prüfung von Sterilisierverfahren ist die getrocknete und gesiebte Gartenerde mit einem Gehalt an höchstresistenten Sporen als Testmaterial allein maßgeblich. Da Proben verschiedener Herkunft auch Unterschiede in der Resistenzhöhe zeigen können, ist jede Sporenerde, vor der Anwendung als Testmaterial auf ihren Resistenzgrad zu prüfen. Die ungleichmäßige Verteilung der höchstresistenten Sporen in einer Gartenerde verlangt, daß 3 g Erde unverhüllt der Dampfwirkung ausgesetzt werden. Diese Testmenge muß den 120gradigen, gesättigten Wasserdampf mindestens fünf Minuten überdauern.

Solange wir nichts Gleichwertiges oder Ebenbürtiges der Sporenerde an Resistenz zur Seite stellen können, ist die Einführung eines künstlich hergestellten Testmaterials abzulehnen. Wir haben es bei Infektionen und Verunreinigungen der täglichen Praxis durch Staub etc. mit den bis jetzt bekannten höchstresistenten Sporen der gedüngten Gartenerde fast ausschließlich zu tun. Auch ist bislang die Beschaffung geeigneter Erdproben, ihre Prüfung und Verwendungsweise weit einfacher als z. B. die Herstellung der in einigen Arbeiten des Schrifttums geforderten imprägnierten Kultursporen. Diese zudem erfüllen auch nicht die den neuen wissenschaftlichen Erkenntnissen entsprechenden Forderungen einer größtmöglichen Sicherheit unter Berücksichtigung maximalster Verhältnisse.

Die Ursache der hohen Dampfresistenz der in Sporenerde enthaltenen „nativen" Sporen ist **eine biologische Eigenheit dieser Dauerformen.** Die Entstehung dieser Sporen geht unter Bedingun

gen vor sich, die wir im Laboratoriumsversuch bis jetzt nur teilweise feststellen konnten. Die Züchtung in erdbodenhaltigen Nährmitteln, die Bebrütung bei höherer Temperatur haben in mehreren Arbeiten übereinstimmend zu geringer Resistenzsteigerung bei den gebildeten Sporen geführt. Zu ähnlichen Ergebnissen führt das Antrocknen oder Imprägnieren von Kultursporen mit steriler Erde. **Unerreicht blieb jedoch bei all den Versuchsergebnissen die hohe Resistenz der in der Erde gereiften Sporen.**

Die von der Berner Schule vertretene Ansicht, daß die chemisch-physikalische Beschaffenheit der Erdpartikelchen den Sporen der Gartenerde einen mechanischen Schutz verleihe, dem fast ausschließlich die hohe Resistenz der nativen Sporen zuzuschreiben sei, kann nach neueren Versuchsergebnissen durchaus nicht beigepflichtet werden. Wenn große Unterschiede in der Korngröße einer Sporenerde keine Resistenzverschiedenheiten erkennen lassen und gleichfalls höhere Schichtmengen ohne nennenswerten Einfluß auf die Dampfresistenz einer Gartenerde sind, **ist der mechanische Schutz, den die Erdpartikelchen den in ihnen enthaltenen nativen Sporen verleihen von ganz untergeordneter Bedeutung.** Hierfür sprechen auch die von v. Angerer neuerdings mitgeteilten, ausführlichen Versuchsreihen, die mit den verschiedenartigsten Adsorptionskörpern als Keimträger angestellt wurden. Die anderslautende Deutung von Versuchsergebnissen der Berner Schule bedürfen einer Richtigstellung. Es geht nicht an, Resistenzunterschiede in Kochversuchen von mehreren Stunden kaum zu berücksichtigen oder in mehrstündigen Schüttelversuchen hergestellte und über Nacht auf Eis gehaltene Sporenauszüge miteinander zu vergleichen. Die möglicherweise eingetretene Änderung im Lebenszyklus der Spoe muß bei derart langzeitiger Versuchsdauer mit wäßrigen Suspensionen in Erwägung gezogen werden. Noch weniger dürfen solche methodische Fehler als Grundlage dienen um die getrocknete und geprüfte Gartenerde durch Sporenmaterial bei der Prüfung von Sterilisierverfahren verdrängen zu wollen.

Zusammenfassung.

1. Es wird erneut bestätigt, daß bei der Prüfung einer Sporenerde als Sterilisiertestmaterial eine Menge von 3 g Erde den 120gradigen Wasserdampf fünf Minuten überdauern muß.

2. Ein Vielfaches in der Korngröße einer getrockneten und gesiebten Gartenerde bedeutet keinen steigernden Einfluß auf die Resistenz gegenüber gespanntem und gesättigtem Wasserdampf von 1 atü.

3. Vielmehr ist bei feinkörnigen Erdproben eine geringe Resistenzzunahme durch die etwas schwierigere Luftentfernung und Durchwärmung vorhanden.

4. Die Erdteilchen als mechanisch schützende Hülle für die „nativen" Erdsporen sind somit bei der Prüfung der Dampfresistenz von untergeordneter Bedeutung. Sie kommen über den Charakter eines Keimträgers im üblichen Sinne nicht hinaus.

5. Die letzten Wachstumsproben bei Sterilitätsversuchen mit Sporenerde zeigen stets endständige Sporenbildner aus der Sphärikusgruppe und zu einem geringeren Anteil Aktinomyceten. Die Bazillen der Mesenterikus-Subtilisgruppe sind weniger resistent.

6. Die Beurteilung der Trübung einer mit Sporenerde infizierten Brühekultur reicht für den Sterilitätsnachweis nicht aus, nur die mikroskopische Untersuchung des Sedimentes von ca. 10 ccm Brühe führt zu einwandfreien Ergebnissen.

7. Die bisher mitgeteilten Untersuchungen über die Ursache der hohen Resistenz der „nativen" Sporen in der Gartenerde sprechen **für eine biologische Wertigkeit dieser in der Erde gereiften Dauerformen.**

Herrn Dozent Dr. Oesterle danke ich für die Überlassung des Themas und für die Anregungen, die er mir bei der Anfertigung der Arbeit gegeben hat.

Schriftennachweis.

1. Stührk: Zbl. f. Bakt., Abt. II (1935), Bd. 93, S. 161.
2. Jettmar: Abh. ges. geb. der Hygiene 1936, H. 22, S. 1.
3. Konrich: Deutsch. Zeitschr. f. Chir. Bd. 245, H. 2. S. 81.
4. — Die bakterielle Keimtötung durch Wärme. Stuttgart, Ferd. Enke, 1938.
5. Christen: Mitt. a. Kliniken u. med. Inst. d. Schweiz (1895), 3. Reihe, H. 2, S. 135.
6. Süpfle: Arhc. f. Hyg. (1916), *85*, 189; (1918), *87*, 232.
7. Williams: Inf. Dis. (1929), *44*, 421.
8. Heiduschka: Arch. f. Hyg. (1934), *115*, 54.
9. Sames: Zeitschr. f. Hyg. (1900), *33*, 313.
10. Jettmar: Arch. f. Hyg. (1938), *119*, 223.
11. Oesterle: Arch. f. Hyg. (1936), *117*, 16.
12. — Zbl. f. Bakt. I. Orig. (1938), *141*, 187; (1939), *143*, 318.
13. Goertzen: Zbl. f. Bakt. I. Orig. (1937), *138*, 227.
14. Manigold: Arch. f. Hyg. (1934), *112*. 315.
15. Knorr: Zbl. f. Bakt. i. Orig. (1933), *127*, 269.
16. Sellin: Med. Dissertation, Würzburg 1939.
17. v. Angerrer: Arch. f. Hyg. (1938), *121*, 12.

Jüdische Autoren.

Sobernheim und Mündel: Zeitschr. f. Hyg. (1936), *118*, 328; (1938), *121*, 90.

Lebenslauf.

Ich, Erika Pannwitz, bin am 15. 6. 1912 in Calbe an der Saale geboren. 1919 trat ich in die Volksschule zu Ballenstedt am Harz. Die Reifeprüfung bestand ich 1934 an der Elisabeth-Rosenthal-Schule zu Magdeburg.

Nach Ableistung der Arbeitsdienstpflicht begann ich im W.S. 1934/35 das Studium der Zahnheilkunde in Berlin. Die zahnärztliche Prüfung legte ich 1938 in Würzburg ab.

Nach meiner Assistententätigkeit an der chirurgischen Abteilung der Universitätszahnklinik führe ich die Praxis eines Zahnarztes in Uffenheim seit September 1939.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich andere, als die im Schriftennachweis angegebenen Hilfsmittel nicht verwendet habe.

Würzburg, Januar 1940.

Erika Pannwitz.